(Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.)

JUN 22 1921

Die Desinfektionswirkung von Sagrotan bei Verwendung optimaler Nährböden zur Nachkultur.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

August Dengler,
Oberarzt d. R.
aus Speyer a. Rh.

Berlin 1918.
Druck von L. Schumacher, N. 4.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent: Herr Geh. Rat Prof. Dr. von Gruber.

Sonderabdruck aus der Hygienischen Rundschau 1918, No. 1 und 2.

Unter den zahlreichen Desinfektionsmitteln, die im Laufe der letzten Jahre von der Industrie auf den Markt gebracht wurden, ist das Lysol auch heute noch eines der wertvollsten; in 2% Lösung tötet es die vegetativen Formen selbst widerstandsfähiger Bakterienarten schon binnen einer Minute verlässlich ab und eignet sich zur Desinfektion der verschiedensten Gebrauchsgegenstände sowie der Haut in hohem Maasse, weil die Lysollösungen infolge ihres Seifengehaltes eine vollkommene Benetzung auch ursprünglich fettiger Oberflächen bewirken. Es läge daher nicht der geringste Grund vor, nach einem anderen Desinfektionsmittel zu suchen, wenn dem Lysol nicht ein so widerwärtiger Geruch eigen wäre, der zudem noch viele Stunden nach der Anwendung haften bleibt. Es unterliegt keinem Zweifel, dass lediglich aus diesem Grunde die Anwendung des Lysols vielfach perhorresciert wird und in der ärztlichen Praxis oft andere Desinfektionsmittel bevorzugt werden, die an baktericider Wirkung dem Lysol weit nachstehen, aber frei von üblem Geruch sind.

Es wäre daher ein grosser Fortschritt, wenn ein „geruchloses Lysol" zu Desinfektionszwecken zur Verfügung stünde. M. Schottelius (1) lenkte im Jahre 1914 die Aufmerksamkeit auf ein fast geruchloses Chlorxylenol-Sapokresolpräparat, das „Sagrotan" der Firma Schülke & Mayr: nach seinen Versuchen entspreche das Sagrotan allen Forderungen, die an ein ideales Desinfektionsmittel gestellt werden müssen; es besitze höchste keimtötende Wirkung, grosse Ungiftigkeit für die Körperzellen und physikalische Eigenschaften, welche seine Anwendung in der Praxis ermöglichen.

Auf Anregung von Herrn Geh. Rat v. Gruber prüfte ich das Desinfektionsvermögen des Sagrotans. Bei diesen Untersuchungen wandte ich ein Verfahren zur Prüfung von Desinfektionsmitteln an, das Herr Prof. Dr. K. Süpfle in gemeinsamen Versuchen mit mir gleichzeitig ausarbeitete (2, 3). Es sei mir gestattet, Herrn Geh. Rat M. v. Gruber sowie Herrn Prof. Süpfle

für ihre Unterstützung und Förderung dieser Arbeit meinen tiefgefühltesten Dank auszusprechen.

Ich beschreibe zunächst die Methodik, die wir benutzten, und daran anschliessend die Ergebnisse dieser Methode bei der Prüfung des Sagrotans.

1. Methodik.

Will man im Laboratoriumsversuch Aufschluss über die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels erhalten, so muss man sich zunächst durch die sogenannte „Vorkultur" grössere Mengen resistenten Bakterienmateriales verschaffen. Die Vorkultur soll so geleitet werden, dass eine möglichst grosse Zahl von Individuen maximal resistent wird. Viele Umstände beeinflussen die Resistenz: der Nährboden, seine Zusammensetzung, Reaktion, der Grad der Feuchtigkeit seiner Oberfläche, das Alter der Kultur usw. Eine Rolle spielt ferner der Zustand der Mutterkultur, von der die Vorkultur angelegt wird. Es ist nicht immer gleichgültig, ob die Mutterkultur täglich frisch umgeimpft wird oder nur selten. Wir haben die Beobachtung gemacht, dass die Vorkultur resistentere Individuen liefert, wenn sie von einer älteren Mutterkultur abgeimpft war. Es kann sich hier um Auslesewirkungen handeln; lässt man eine völlig entwickelte Kultur bei Zimmer- oder Eisschranktemperatur stehen, so sterben allmählich die Individuen ab, zuerst und in grösserer Zahl natürlich die weniger resistenten, während die resistenten am längsten leben bleiben. Impft man von einer solchen Mutterkultur ab, so ist es verständlich, dass die neue Kultur eine relativ grosse Zahl resistenter Individuen enthält. Umgekehrt darf die Mutterkultur — wenigstens bei sporenfreien Bakterien — nicht zu alt sein, weil sonst die überlebenden schon geschwächt sein können.

Im allgemeinen gehen wir so vor, dass wir die betreffende Bakterienart — von der wir uns besonders resistente Stämme halten — auf die Oberfläche von Agarplatten (oder des jeweils geeignetsten Nährbodens) in dichter Aufschwemmung mit sterilem Glasspatel aussäen, so dass nach Bebrütung bei der optimalen Temperatur eine üppige, konfluierende Vegetation entsteht.

In bestimmten Fällen ist es zweckmässig, der Vorkultur eine Tierpassage vorauszuschicken. Wir verfahren so stets zur Gewinnung resistenten Milzbrandsporenmateriales, das wir in Anlehnung an die Erfahrungen von Adolf Heider (4) folgendermaassen zubereiten: Mit wenig Milzbrandbacillen wird ein Meerschweinchen inficiert. Das Herzblut des eingegangenen Tieres wird auf die Oberfläche von frisch erstarrtem Weizenextraktagar ausgestrichen. Zur Bereitung dieses Versporungsnährbodens werden 500 g Weizengries 24 Stunden lang mit 1 Liter Wasser maceriert; das Filtrat wird mit 1,5% Agar versetzt und neutralisiert (Lackmus). Die besäten Weizenextrakt-Agarplatten bleiben so lange (2—3 Tage) bei 37°, bis nach mikroskopischem Befund völlige Versporung eingetreten ist.

Das durch die Vorkultur gewonnene Testmaterial muss nun zur Anstellung des Desinfektionsversuches so vorbereitet werden, dass man mit der Schädigung

der Bakterien in einem gegebenen Moment beginnen und zu einem gewünschten Zeitpunkt plötzlich enden kann. Handelt es sich um Sporenmaterial und soll die Resistenz gegen thermische Einwirkungen geprüft werden, so verfahren wir folgendermaassen: Die Kulturmasse wird mit wenig steriler Kochsalzlösung abgeschwemmt und sorgfältig verrieben, so dass eine dichte homogene Sporensuspension entsteht, die durch Leinwandfilter filtriert wird. Mit der Aufschwemmung werden etwa 1 cm lange, trocken-sterilisierte Fäden der geflochtenen Turner-Seide No. 7 getränkt, die vor der Ingebrauchnahme von dem anhaftenden Kleister durch Ausbrühen in kochendem Wasser zu befreien sind. Die mit Sporenaufschwemmung durchtränkten Fäden werden einzeln in nicht zu nahen Abständen auf Petri-Schalen gebracht und müssen nun rasch — ehe Auskeimen beginnt oder vorbereitet wird — getrocknet werden. Dies erfolgt am besten im Vakuum über Schwefelsäure bei Lichtabschluss. Sind die Sporenfäden getrocknet, so werden sie in sterilen Pulverfläschchen mit gut eingeriebenem Glasstöpsel, luftdicht verschlossen, kühl und dunkel aufbewahrt.

Die Benutzung inficierter Seidenfäden oder Granaten bietet den Vorteil, dass man mit den Bakterien bequem hantieren kann. Daher ist dieses Verfahren auch bei der Prüfung der Resistenz gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln vielfach beliebt. Soviel Seidenfäden oder Granaten, als man Einzelprüfungen vorzunehmen wünscht, werden in die Desinfektionslösung bekannter Koncentration bei bestimmter Temperatur in einem gegebenen Moment eingelegt, und nach gemessenen Zeiten wird jeweils ein Faden bezw. eine Granate entnommen.

Diese sogenannte „Trockenmethode“ hat aber, zumal bei der Prüfung der Resistenz vegetativer Bakterienformen, wie M. v. Gruber (5) im Jahre 1891 dargelegt hat, viele Fehlerquellen. Denn sie verstösst gegen den wichtigen Grundsatz, die Bakterien von der Vorkultur bis zu dem Moment, in welchem sie der schädigenden Wirkung ausgesetzt werden, in ihrem Resistenzgrad nicht zu schwächen. Das Antrocknen an Fäden oder Granaten ist eine Procedur, bei der viele Individuen absterben oder wenigstens geschädigt werden. Nur bei Sporenmaterial besteht diese Gefahr nicht, wenn die Trocknung rasch erfolgt, bevor das Auskeimen beginnt. Andererseits werden bei der Antrocknungsmethode manche Keime unter dem Schutz einer dicken Schicht erst spät oder gar nicht von dem Desinfektionsmittel erreicht. Ferner muss vermieden werden, dass nach Beendigung des Versuches nennenswerte Mengen des Desinfektionsmittels an dem Testmaterial haften. Denn die Frage, ob die geprüften Keime noch leben oder abgetötet sind, können wir nur beantworten, indem wir die Keime in Nährlösungen bringen und abwarten, ob bei geeigneter Temperatur noch eine Vermehrung eintritt oder nicht. Wenn bei dieser „Nachkultur“ durch das Hineinbringen des Testmaterials gleichzeitig Desinfektionsflüssigkeit in die Nährböden gelangt, kann es eventl. zur Entwicklungshemmung kommen, so dass die Keime sich nicht vermehren, obwohl sie durchaus lebensfähig sind. Für die Beobachtung

erscheint dann der Nährboden steril — es wird also eine Abtötung vorgetäuscht, die in Wirklichkeit gar nicht eingetreten ist. Keime, die durch den vorausgegangenen Aufenthalt in einer Desinfektionslösung geschwächt waren, sind schon gegen kleine Mengen Desinfektionsmittel im Nährboden empfindlich, so dass Entwicklungshemmung bei ihnen besonders leicht eintreten kann. An Seidenfäden und Granaten haften ziemlich erhebliche Mengen Desinfektionsmittel; sie zu entfernen, macht grösserere Schwierigkeit; die Fäden müssen abgespült werden; hierbei werden manche Keime durch das Spülmittel geschädigt, andere werden losgelöst, so dass sie der Beurteilung entgehen; übrigens kann auch trotz des Waschens noch Desinfektionslösung zurückbleiben.

Die Fehlerquellen der Trockenmethode vermeidet die Suspensionsmethode, welche den Vorteil bietet, dass alle Keime des Testmateriales von allen Seiten gleichmässig und gleichzeitig der Einwirkung des Desinfektionsmittels ausgesetzt werden. Bei der Suspensionsmethode werden die etwa 18 stündigen Bakterienreinkulturen durch sorgfältiges Abschwemmen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung zu dichten Suspensionen verarbeitet, welche man zur Befreiung von etwaigen gröberen Kulturpartikelchen durch doppelte Lagen dichter steriler Leinwandfilter schickt. Die Bakteriensuspensionen werden mit dem gleichen Volumen der Desinfektionslösung vermischt, die doppelt so koncentriert sein muss, als sie zur Wirkung kommen soll. Nach gemessenen Zeiten werden mit einer Platinöse Proben des Gemisches entnommen und in geeignete Nährmedien überimpft.

Schon M. v. Gruber (5) hatte darauf aufmerksam gemacht, dass die als Testmaterial benutzte Bakteriensuspension dicht sein muss, damit in der einen Oese, mit der man während des Desinfektionsversuchs zeitweise Stichproben entnimmt, genügend viele resistente Keime enthalten sind. In ihrer Resistenz sind ja die Individuen eines Stammes unter sich nicht gleich: die überwiegende Mehrzahl der Bakterien einer Reinkultur besitzt eine mittlere Resistenz, eine Minderheit fällt unter diesen Mittelwert, ist sehr hinfällig, eine andere Minderheit überragt den Durchschnitt, zeichnet sich durch hohe Resistenz aus. Daher müssen wir trachten, im Versuch eine möglichst grosse Zahl von Individuen der Schädigung auszusetzen; es wächst dann die Wahrscheinlichkeit, dass unter den geprüften Keimen auch die von Haus aus resistentesten Zellen in genügender Zahl vorhanden sind und durch die Verimpfung einer Stichprobe der Nachkultur zugeführt werden. Wir verwenden die Kulturmasse einer grossen Schalenoberfläche (etwa 1 g) in einer Verdünnung mit 10—30 ccm Flüssigkeit, da wir uns überzeugt haben, dass die Abtötungszeiten hierdurch erheblich verlängert werden: in dichter Aufschwemmung wird Bacterium coli durch 1 proc. Phenol nach 70 Minuten abgetötet; wird dasselbe Testmaterial fünffach verdünnt und der Versuch wiederholt, so erhält man schon nach 20 Minuten Abtötung.

Wie dieser Versuch (Tabelle I, S. 7) zeigt, bietet die Benützung einer dichten Aufschwemmung in höherem Maasse die Aussicht, das Vorhandensein

Tabelle I.

Resistenz von Bact. coli gegen 1 proc. Phenol.

Dichtigkeit der Bakteriensuspension: Kulturmasse von 15 kleinen (Petri-) Schalenoberflächenaussaaten in 40 ccm NaCl. 2. April 1914.

Nach Minuten:	10	20	30	40	50	60	70	80
Unverdünnt	+	+	+	+	+	+	—	—
Verdünnt 1 : 5	+	—	—	—	—	—	—	—

In den Tabellen bedeutet + Wachstum, — kein Wachstum.

der noch nicht abgetöteten, weil widerstandsfähigen Keime des Testmateriales in der Nachkultur zu erkennen, als es bei einer weniger dichten Aufschwemmung möglich ist.

Um in die Oese, mit der man Stichproben des Gemisches von Bakterien und Desinfektionslösung entnimmt, möglichst viele resistente Zellen zu bringen, ohne die Bakterienaufschwemmung zu dicht machen zu müssen, wurde eine grosse Oese genommen. Wir arbeiteten mit einer Oese, welche 12 mg fasst (die Normalöse enthält nur 2 mg). Dadurch ist allerdings die Gefahr der Entwicklungshemmung wieder vergrössert; aber wir schalten sie aus, indem wir die Menge des Nährbodens, in den der Oeseninhalt übertragen wird, entsprechend gross wählen (30—50 ccm) und überdies eine weitere Abimpfung aus dem ersten Kulturröhrchen in ein zweites vornehmen. Dieses Verfahren bewahrt uns im allgemeinen mit Sicherheit vor einer Entwicklungshemmung. Nur bei einigen Desinfektionsmitteln ist eine besondere Maassnahme nötig: die Keime, auf die das Desinfektionsmittel während der gewünschten Zeit eingewirkt hatte, müssen durch Entgiftung mit einem geeigneten chemischen Gegenmittel von jeder Spur des Desinficiens befreit werden. So ist nach Sublimateinwirkung die Nachbehandlung mit Schwefelammonium, nach Formaldehyddesinfektion die Anwendung von Ammoniak erforderlich.

Ganz besonders wichtig ist die Art der Nachkultur. Sie soll die Entscheidung bringen, ob durch die vorausgegangene Procedur das Testmaterial abgetötet worden ist oder nicht Es kommt also bei diesem letzten Akt der Prüfung alles darauf an, dass wir tatsächlich imstande sind, in unseren Nährböden den — zum Teil geschwächten — Keimen optimale Bedingungen zum Auskeimen zu bieten. Ursprünglich wurden feste Nährböden für die Nachkultur gewählt. Schon im Jahre 1891 hatte M. v. Gruber darauf aufmerksam gemacht, dass flüssige Nährböden zur Nachkultur geeigneter sind, da in ihnen oft Keime noch zur Vermehrung kommen, die auf festen Nährböden nicht mehr auswachsen. Seither werden zur Nachkultur vor allem flüssige Nährböden mit Vorteil verwendet.

Als „flüssiger Nährboden“ dient hierbei meist die gewöhnliche peptonhaltige Fleischbrühe. In ihr wachsen ungeschwächte sowie viele geschwächte

Keime sehr gut. Stärker geschwächte Keime allerdings gedeihen in der gewöhnlichen Fleischbrühe oft nicht mehr; solche Keime lassen sich jedoch, wie wir feststellen konnten, zu üppiger Vermehrung bringen, wenn man sie in Bouillon überträgt, welche wachstumsfördernde Zusätze wie Traubenzucker, Milchzucker, Nutrose, Serum usw. enthält. Da diese Beobachtung lehrte, dass bei Benutzung der gewöhnlichen Bouillon zur Nachkultur der Tod von Keimen vielfach nur vorgetäuscht wird, waren wir bestrebt, Nährböden ausfindig zu machen, welche eine schärfere Erfassung der Lebensfähigkeit der Bakterien ermöglichen.

In systematischen Vergleichsuntersuchungen wurde die Art und die Menge der Stoffe ausprobiert, welche man zur Bouillon zusetzen muss, um für die einzelnen Bakterienarten den optimalen Nährboden zu erhalten; diejenige Nährbodenkombination galt uns als die geeignetste, in welcher die durch die bestimmt abgestufte Einwirkung eines Desinficiens geschwächten Keime sich noch vermehrten, während die übrigen Vergleichsnährböden gleichbehandelten Keimen kein Wachstum mehr ermöglichten. Die so ermittelten Nährböden sind gleichzeitig diejenigen, in denen die betreffende Bakterienart am üppigsten wächst.

Die in ihrer Eignung zur Nachkultur von uns geprüften Nährmedien wurden so hergestellt, dass zunächst als gleichartiges Ausgangsmaterial eine grössere Menge „koncentrierten Fleischwassers“ durch Verarbeiten von Fleisch einheitlicher Herkunft (1 kg Fleisch + 1 Liter Wasser) bereitet wurde. Durch Verdünnung des für sich sterilisiert aufbewahrten „koncentrierten Fleischwassers“ zu gleichen Teilen mit Wasser und durch Versetzen mit 1% Pepton, 0,5% Kochsalz sowie Alkalisierung mit Natronlauge bis zur bleibenden eben wahrnehmbaren Rosafärbung einer Probe bei Phenolphthaleïnzusatz wurde die „gewöhnliche Bouillon“ gewonnen. Ein Teil der gewöhnlichen Bouillon diente in den Versuchen als Vergleichsnährboden; ein anderer Teil ward versetzt mit steigenden Koncentrationen von Traubenzucker, Milchzucker, Gemischen von beiden Zuckerarten, Glycerin. Ferner wurde Bouillon mit erhöhter Peptonkoncentration, mit Zusatz von Nutrose und mit gleichzeitigem Zuckerzusatz versucht. Endlich wurden die verschiedenen Nährbödenkombinationen mit abgestuften Mengen sterilen Rinder- oder Pferdeserums versetzt. Die zu vergleichenden Nährböden waren also innerhalb einer Versuchsreihe nach Herkunft des Fleisches und in ihrem Alkalitätsgrad unter sich völlig gleich und unterschieden sich nur durch die gewählten Zusätze.

Die Schlussfolgerung, dass eine bestimmte Nährbodenkombination sich am besten zur Nachkultur eigne, zogen wir nicht aus zeitlich verschiedenen Versuchen, sondern aus dem Ergebnis ein- und derselben grösseren Versuchsreihe; hier waren also alle einzelnen Faktoren, welche das Resultat beeinflussen können (Stamm, Alter der verwendeten Bakterienkultur, Zahl, Resistenzgrad der Individuen usw.) gleich, und nur die Art der Nachkultur war verschieden.

Als optimalen Nährboden für Staphylokokken fanden wir 3 proc. Traubenzuckerbouillon, für Bact. coli 1 proc. Traubenzuckerbouillon, für Milzbrandsporen

3 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum. Wie die Tabellen II bis VI zeigen, erweist sich bei Benutzung optimaler Nährböden zur Nachkultur die Resistenz der Bakterien um das Zwei- bis Dreifache höher, als man bisher annahm.

Tabelle II.

Resistenz von Staphylococcus pyogenes aureus gegen 1 proc. Phenol.

Dichtigkeit der Bakteriensuspension. Kulturmasse von 4 grossen (Drigalski-) Schalenoberflächenaussaaten in 115 ccm NaCl. 9. April 1914.

Nach Minuten:	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	220	240	260	290
Gewöhnliche Bouillon . .	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3 proc. Traubenzuckerbouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	+	−	−	−

Tabelle III.

Resistenz von Bact. coli gegen 1 proc. Phenol.

Dichtigkeit der Bakteriensuspension: Kulturmasse von 15 kleinen (Petri-) Schalenoberflächenaussaaten in 50 ccm NaCl. 16. April 1914.

Nach Minuten:	20	30	40	50	60	70	80	90	100	120
Gewöhnliche Bouillon	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
1 proc. Traubenzuckerbouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−

Tabelle IV.

Dampfresistenz von Milzbrandsporen (Stamm Halle).

19. Juni 1914.

Nach Minuten:	1	2	3	4	5	6	8	10	12	15	20
Gewöhnliche Bouillon	+	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
3 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum	+	+	+	+	+	+	+	−	−	--	−

Tabelle V.

Dampfresistenz von Milzbrandsporen (Stamm Freiburg).

10. December 1914.

Nach Minuten:	5	8	10	12	15	18	20	22
0,5 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum	+	+	−	−	−	−	−	−
1 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum	+	+	−	−	−	−	−	−
2 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum	+	+	+	−	−	−	−	−
3 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum	+	+	+	+	+	+	−	−

Tabelle VI.

Dampfresistenz von Milzbrandsporen (Stamm S. M.).

24. Juni 1914.

Nach Minuten:	1	2	3	4	6	8	10	12	15	20	25	30	40
Gewöhnliche Bouillon	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+*)	—

*) Mit dieser Kultur wird eine Maus geimpft: sie stirbt an Milzbrand.

Staphylokokken werden durch 1 pr c. Phenol erst nach 240 Minuten abgetötet, nicht schon nach 120 Minuten, wie der Parallelversuch mit Nachkultur in gewöhnlicher Bouillon vortäuscht. Bact. coli wird durch 1 proc. Phenol nach 120 (nicht 50) Minuten abgetötet.

Milzbrandsporen werden nach den geltenden Anschauungen durch strömenden Wasserdampf (im Ohlmüllerschen Sporenprüfungsapparat) nach 4 bis 6, spätestens nach 12 Minuten abgetötet. In Wirklichkeit ist ihre Dampfresistenz viel höher, wie man bei der Nachkultur in optimalen Nährböden erkennt; sehr instruktiv ist in dieser Beziehung ein Versuch wie in Tabelle V, wo man sieht, wie mit steigender Koncentration des Traubenzuckergehaltes die Serumbouillon immer geeigneter zur Nachkultur wird. Wir haben Sporenmaterial in den Händen gehabt, das je nach der Resistenz des Stammes und der Sporenzubereitung nach einer Dampfeinwirkung von 18, 25, ja von 30 Minuten noch entwicklungsfähige und — wie der Tierversuch ergab — virulente Milzbrandsporen enthielt.

Die Nachkultur muss ausreichend lange beobachtet werden. Bei ihrer optimalen Temperatur müssen die Keime nicht nur 24 Stunden, sondern viele Tage gehalten werden. Nicht selten tritt erst verspätet Auskeimen auf, das sonst der Feststellung entgeht.

2. Die Desinfektionswirkung von Sagrotan.

Mit der geschilderten Methodik wurde die Desinfektionskraft des Sagrotans geprüft. Sagrotan besteht aus einem Gemisch von Chlorxylenol und Chlorkresol (in Seife gelöst). Nach den Angaben von Schottelius wirken Chlorxylenol und Chlorkresol als Gemisch wesentlich stärker keimtötend, als jede der beiden Komponenten für sich allein. Dass diese Behauptung zutreffend ist, bestätigen Versuche, die Herr Geh. Rat M. v. Gruber anstellte; die hauptsächlichen Ergebnisse dieser Untersuchungen sind folgende:

Prüft man das 15 proc. p-Chlor-m-Kresol-Seifenpräparat und das 15 proc. Chlorxylenol-Seifenpräparat gegenüber Staphylokokken und Bact. coli, so scheint es keinen wesentlichen Unterschied zu machen, ob Chlorkresol und Chlorxylenol als Gemisch oder für sich allein in entsprechenden Koncentrationen verwendet werden. Wenn man dagegen die Wirkung auf Bact. pyocyaneum untersucht, so wird es ganz zweifellos, dass bei der Mischung

von Chlorxylenol und Chlorkresol tatsächlich ein besonderes Moment zu Tage tritt.

Chlorxylenol besitzt eine nur sehr schwache Abtötungskraft gegenüber Bact. pyocyaneum; eine 1 proc. Lösung tötet den Pyocyaneus noch nicht in 1 Stunde, eine $^1/_2$ proc. Lösung noch nicht in 6 Stunden. Dagegen tötet 1 proc. Chlorkresollösung den Pyocyaneus nach 5 Minuten, $^1/_2$ proc. Chlorkresollösung spätestens nach 10 Minuten. Prüft man nun das molekulare Gemisch von Chlorkresol und Chlorxylenol auf den Pyocyaneus, so ist dieses viel stärker wirksam, als es der Wirkung jedes der einzelnen Bestandteile entspricht.

Tabelle VII.

Desinfektionsversuche an Bact. pyocyaneum.

Koncentration	Substanz	Nach 10 Minuten Einwirkung	
		noch Wachstum	kein Wachstum mehr
$^1/_2$ proc.	15 proc. p-Chlor-m-Kresol . .	3—5	4—10
	15 proc. Chlorxylenol	360	nicht festgestellt
	Mischung von je 15 proc. p-Chlor-m-Kresol und Chlorxylenol zu gleichen Teilen	3—5	4—10
	Molekulare Mischung von 15 proc. p-Chlor-m-Kresol und 15 proc. Chlorxylenol	$^1/_2$—2	1— 3

Die molekulare Mischung von Chlorkresol und Chlorxylenol wirkt in $^1/_2$ proc. Koncentration viel stärker als die $^1/_2$ proc. Chlorkresollösung, und die Mischung zu gleichen Teilen in $^1/_2$ proc. Verdünnung genau so kräftig wie die $^1/_2$ proc. Chlorkresollösung, obwohl sie nur halb soviel Chlorkresol neben dem an sich wirkungslosen Chlorxylenol enthält.

Die ausserordentliche Stärke der Desinfektionswirkung des Gemisches von Chlorkresol und Chlorxylenol auf den Pyocyaneus ist höchst auffallend.

Von einer einfachen Addition der Wirkung der beiden Substanzen kann hier nicht die Rede sein, da das Chlorxylenol sich bei den Versuchen in den angewendeten Koncentrationen als nahezu wirkungslos gegen Bact. pyocyaneum gezeigt hat. Hier muss ein besonderes, bisher unbekanntes Moment in Wirksamkeit treten.

Die Versuche von Herrn Geh. Rat M. v. Gruber bestätigen also, dass das Gemisch von p-Chlor-m-Kresol und Chlorxylenol wesentlich stärker keimtötend auf Bact. pyocyaneum wirkt, als aus der Desinfektionswirkung jeder der beiden Substanzen für sich allein erklärlich ist.

Desinfektionskraft des Sagrotans gegenüber Milzbrandsporen.

Schottelius hatte in seiner ersten Publikation (1) über das Sagrotan mitgeteilt, dass eine 2 proc. Sagrotanlösung Milzbandsporen in 24 Stunden vernichte. Da keines der bisher bekannten Präparate der Phenolreihe diese enorme Wirksamkeit besitzt, lag es von vornherein nahe, anzunehmen, dass wohl nur Sporenmaterial geringer Resistenz so rasch von Sagrotanlösungen

abgetötet werde. Um so weniger konnte man erwarten, dass sich bei Benutzung unserer scharfen Versuchsbedingungen eine sporicide Wirkung des Sagrotans werde nachweisen lassen.

Das Milzbrandsporenmaterial, das in der oben dargelegten Weise gewonnen worden war, wurde sowohl in Suspension, als auch an Seidenfäden angetrocknet benutzt. Verschieden koncentrierte Lösungen von Sagrotan wurden jeweils in sterile Pulverfläschchen gefüllt und eine Anzahl Milzbrandsporenfäden in die Lösungen gebracht; die Fläschchen wurden mit gut passendem und eingefettetem Glasstöpsel luftdicht verschlossen, um jede Verdunstung und somit Koncentrationsänderung zu verhindern. Nach gemessenen Zeitabständen entnahm ich je 2 Fäden und übertrug sie nach ausgiebigem Abspülen in sterilem Wasser in Nährböden.

Von dem gleichen Sporenmaterial, das zur Herstellung der Sporenfäden diente, wurde eine Sporensuspension hergestellt und mit den entsprechend koncentrierten Sagrotanlösungen vermischt; nach verschiedenen Zeiten wurde jeweils eine Oese des Gemisches entnommen und in Nährböden verimpft.

Tabelle VIII.

Wirkung von Sagrotan auf Milzbrandsporen (Stamm Ogawa).

Sporen in Aufschwemmung. Beginn des Versuches am 29. April 1914.

Nach Tagen:	1	2	3	4	5	6	8	9	11	13	15	17	30	40	50	60	70	77	90
Sagrotan 2 proc.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sagrotan 5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sagrotan 10 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol 5 „	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Tabelle IX.

Wirkung von Sagrotan auf Milzbrandsporen (Stamm Ogawa).

Sporen am 29. April 1914 an Seidenfäden getrocknet.
Beginn des Versuches am 8. Mai 1914.

Nach Tagen:	1	2	3	4	5	6	7	8	10	15	20	30	40	50	60	68	80
Sagrotan 2 proc. . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sagrotan 6 „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sagrotan 10 „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sagrotan 20 „ . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol 5 proc. . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Wie die Tabellen VIII und IX zeigen, ist selbst eine 20 proc. Sagrotanlösung nicht imstande, innerhalb 80 Tagen Milzbrandsporen abzutöten, die nach dieser Zeit durch 5 proc. Phenollösung vernichtet waren. Die Versuche wurden im ganzen mit fünf verschiedenen Milzbrandstämmen unserer Institutssammlung ausgeführt (Stamm Ogawa, Schlachthaus München, Sobernheim, Freiburg, Halle); keiner dieser Stämme, die z. T. eine geringere Phenolresistenz (40 Tage) hatten, wurde von 20 proc. Sagrotan in der gleichen Zeit abgetötet

wie von 5 proc. Phenol. Bei diesen Versuchen war die Nachkultur jeweils in 3 proc. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum vorgenommen worden. Ich bemerke jedoch ausdrücklich, dass ich in einem Versuch (Tabelle VIII) parallel auch gewöhnliche Bouillon eine Zeit lang zur Nachkultur benutzte; hier keimten nach 11 tägiger Einwirkung von 10 proc. Sagrotan (längere Einwirkung wurde nicht geprüft) die in gewöhnliche Bouillon ausgesäten Fäden ebenfalls aus. Durch längeren Aufenthalt in stärkeren Sagrotanlösungen verloren die Milzbrandsporen weder ihre Lebensfähigkeit noch ihre Virulenz: Sporenmaterial, das nach 49 tägiger Einwirkung von 10 proc. Sagrotan in unserem optimalen Nährboden ausgekeimt war, vermochte eine Maus zu töten.

Demnach kann das Sagrotan auch in höheren Koncentrationen nicht als Desinficiens für Milzbrandsporen in Betracht kommen.

Desinfektionskraft des Sagrotans gegenüber Staphylokokken.

Unter den vegetativen Bakterienformen besitzen die Staphylokokken die grösste Resistenz. Nachdem ermittelt war, dass das Sagrotan keine sporicide Fähigkeit besitzt, war es wichtig, seine Wirkung auf resistente Wuchsformen festzustellen. Mittels der Suspensionsmethode wurde untersucht, welche Koncentration des Sagrotans in wenigen Minuten einen widerstandsfähigen Staphylokokkenstamm abzutöten vermag.

Tabelle X.

Desinfektionskraft des Sagrotans gegenüber Staphylococcus aureus.

Dichtigkeit der Bakteriensuspension: Kulturmasse von 6 grossen (Drigalski-) Schalenoberflächenaussaaten in 150 ccm NaCl. 9. Juni 1914.

Nach Minuten:		1	2	3	4	5	6	130	140	160	200	240	260	280
2 proc. Sagrotan	Gewöhnliche Bouillon	+	+	+	—	—	—							
	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	+	+	+	+	+	+							
3 proc. Sagrotan	Gewöhnliche Bouillon	+	—	—	—	—	—							
	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	+	+	+	+	+	—							
4 proc. Sagrotan	Gewöhnliche Bouillon	+	—	—	—	—	—							
	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	+	+	+	—	—	—							
5 proc. Sagrotan	Gewöhnliche Bouillon	+	—	—	—	—	—							
	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	+	+	—	—	—	—							
1 proc. Lysol	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	+	+	+	+	+	+							
2 proc. Lysol	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	—	—	—	—	—	—							
1 proc. Phenol	Gewöhnliche Bouillon	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
	3 proc. Traubenzuckerbouillon . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Tabelle X zeigt, dass das Sagrotan gegenüber Staphylokokken eine kräftige Wirkung besitzt, allerdings dem Lysol etwas nachsteht: eine 2 proc. Lysollösung tötet innerhalb einer Minute Staphylokokken restlos ab, eine Leistung,

die selbst von einer 5 proc. Sagrotanlösung nicht erreicht wird. Immerhin würde in der Praxis der Wohnungsdesinfektion an die Stelle einer 2- bis $2^1/_2$ proc. Lysollösung unbedenklich eine 3- bis 4 proc. Sagrotanlösung gesetzt werden können.

Desinfektionskraft des Sagrotans gegenüber Bacterium coli.

Die Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe sind weniger resistent als die Staphylokokken. Wegen ihrer grossen praktischen Bedeutung pflegt man sich aber stets speciell auch für die Wirkung eines Desinfektionsmittels auf Bacterium coli zu interessieren.

Wie gegenüber Staphylokokken erweist sich — gemäss Tabelle XI — Sagrotan in ein- und mehrprocentigen Koncentrationen auch gegenüber Bacterium coli als etwas weniger wirksam, als Lysol.

Tabelle XI.

Desinfektionskraft des Sagrotans gegenüber Bacterium coli.

Dichtigkeit der Bakteriensuspension: Kulturmasse von 5 grossen (Drigalski-) Schalenoberflächenaussaaten in 100 ccm NaCl. Nachkultur in 1 proc. Traubenzuckerbouillon. 29. März 1916.

Nach Minuten:	1	2	3	4	5	6	8	10	15	20	40	60	70	80	250	350
$1^1/_2$ proc. Sagrotan . .	+	−	−	−	−	−	−	−								
$1^1/_2$ „ Lysol . . .	−	−	−	−	−	−	−	−								
1 „ Sagrotan . .	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−						
1 „ Lysol . . .	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−						
0,5 „ Sagrotan . .	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−					
0,5 „ Lysol . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−					
0,2 „ Sagrotan . .					+			+	+	+	+	−	−	−	−	−
0,2 „ Lysol . . .					+			+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 „ Phenol . . .					+			+	+	+	+	+	−	−		

Bemerkenswerterweise ist Sagrotan jedoch in 0,5 proc. und in noch schwächeren Lösungen den gleichkoncentrierten Lysolverdünnungen überlegen. Dies gilt nicht nur gegenüber Bacterium coli, sondern, wie wir uns in besonderen Versuchen überzeugt haben, gegenüber Staphylokokken. Und zwar wächst die Ueberlegenheit des Sagrotans über das Lysol mit dem Grade der Verdünnung.

Dieses auf den ersten Blick überraschende Ergebnis wird erklärlich, wenn wir berücksichtigen, dass Sagrotan einen viel geringeren Procentsatz an wirksamer Substanz enthält als Lysol. Daher kommt es, dass, obwohl in den schwächsten Verdünnungen Sagrotan wirksamer ist als Lysol, bei zunehmender Koncentration Lysol das Sagrotan in der Desinfektionskraft überholt.

Diese Ergebnisse sind für die praktische Anwendung des Sagrotans von Wichtigkeit. Soll Sagrotan an Stelle des Lysols im Seuchendienst bei der Wohnungsdesinfektion, bei der chirurgischen Händedesinfektion usw. benutzt werden, wo die erstrebte Wirkung rasch eintreten soll, so wird man Sagrotan nicht in geringeren Koncentrationen als in 3- bis 4 proc. Lösung anwenden dürfen. Wo es nicht auf eine schnelle Desinfektionswirkung ankommt, wo der Zusatz

eines geeigneten Desinfektionsmittels mehr den Zweck hat, rasch eine sterile Spülflüssigkeit zu erzeugen — z. B. bei Spülungen des Nasenrachenraumes, des inneren Ohres, bei gynäkologischen Spülungen, bei Blasen- und Nieren-Spülungen, beim Ausspülen von Körperhöhlen, bei Operationen usw. — wird an die Stelle von 0,1- bis 0,2proc. und noch schwächeren Lysollösungen mit Vorteil eine Sagrotanlösung treten können, die in 0,1- bis 0,2 proc. Koncentration etwa doppelt so wirksam ist, wie Lysol.

Wird für die praktische Anwendung die Wirkungsart des Sagrotans in dieser Weise richtig umgrenzt, so darf die Einführung des Sagrotans angesichts seiner äusseren Vorzüge als ein wertvoller Fortschritt bezeichnet werden.

Literatur.

1) Schottelius, M., Chlor-Xylenol-Sapokresol („Sagrotan"), ein neues Desinfektionsmittel, Arch. f. Hyg. Bd. 82. S. 76.
2) Süpfle, K. und Dengler, A., Die Bedeutung optimaler Nährböden zur Nachkultur bei der Prüfung von Desinfektionsverfahren. Arch. f. Hyg. Bd. 85. S. 189.
3) Süpfle, K., Ueber die Resistenz der Bakterien und ihre experimentelle Prüfung. Sitzungsberichte der Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München 1916.
4) Heider, Adolf, Ueber die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel bei erhöhter Temperatur. Arch. f. Hyg. Bd. 15. S. 341.
5) Gruber, M., Ueber die Methoden der Prüfung von Desinfektionsmitteln. VII. internationaler Kongress für Hygiene und Demographie zu London 1891. Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. S. 115.

Lebenslauf.

Geboren am 14. August 1887 zu Speyer a. Rh., besuchte ich daselbst die Volksschule und trat im Herbst 1899 in die erste Klasse des Humanistischen Gymnasiums in Speyer über. Nach Ablegung der Absolutorialprüfung im Jahre 1908 hörte ich die ersten zwei vorklinischen Semester an der Universität München. Vom 3.—6. Semester einschließlich besuchte ich die Universität Straßburg, wo ich meine ärztliche Vorprüfung bestand. Im Sommersemester 1911 (6. Semester) leistete ich als Einjährig-Freiwilliger mein Militärhalbjahr beim Sächs. Inf.-Rgt. 105. Die vier klinischen Semester hörte ich an der Universität München und legte dort Ende 1913 meine ärztliche Prüfung ab. Vom 1. Februar 1914 ab war ich Medizinalpraktikant am Hygienischen Institut der Universität München. Bei Ausbruch des Krieges wurde ich zum Heeresdienst einberufen und stehe zur Zeit als Oberarzt im Felde.